IMMUNANTWORT UND KREISLAUFREAKTION BEI KANINCHEN NACH ORALER APPLIKATION VON MENSCHLICHEM GAMMAGLOBULIN

1981

GEORGE FIGACZ

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547022_0048

Aus dem Institut für chirurgische Forschung
der Universität München
Klinikum Großhadern

Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel

IMMUNANTWORT UND KREISLAUFREAKTION BEI KANINCHEN NACH ORALER APPLIKATION VON MENSCHLICHEM GAMMAGLOBULIN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangen der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

GEORGE L. FIGACZ

aus

München

1981

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr.med. J. Seifert
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 7. 81

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die Ausführung dieser Arbeit verdanke ich in erster Linie Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel, der es mir ermöglichte, in dem von ihm geleiteten Institut für chirurgische Forschung die Untersuchungen durchzuführen. Dafür danke ich ihm.

Besonderen Dank zolle ich Herrn Prof. Dr. J. Seifert bei, der mir stets mit größter Hilfsbereitschaft beiseite stand.

Zu großem Dank bin ich auch Frl. J. Krumbach verpflichtet, die mir einen Großteil der technischen Arbeit abgenommen hat.

Frl. Ganser und Frl. Pfleiderer, die mir bei der Durchführung der Arbeit behilflich waren, möchte ich auch danken.

In Dankbarkeit meinen Eltern, meiner Frau und meinen Kindern.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	3
II. MATERIAL UND METHODEN	3
1. Ouchterlonýs Agargel-Doppeldiffusionstest	3
2. Radioimmunassay	4
3. Markierung der Proteine mit Jod ^{125} bzw. Jod ^{131}	5
4. Trennung der markierten Proteine von dem ungebundenen Indikator	6
5. Methodik der Szintillationszählung für Gammastrahlen	7
6. Messung der arteriellen Blutdruckes	8
7. Durchblutungsmessungen mit radioaktiven Kugeln	8
III. VERSUCHSTIEREN UND VERSUCHSGRUPPEN	13
1. Versuchstiere	13
2. Immunisierung der Kaninchen	13
3. Versuchsablauf des Experimentes	15
4. Antigenexposition	15
5. Blutabnahme für immunologische Untersuchungen	17

Seite

IV. ERGEBNISSE 18
1. Mortalitätsrate 18
2. Immunologische Parameter 20
3. Die Verteilung von radioaktiv markiertem HGG 24
4. Blutdruck 27
5. Organdurchblutung 31

V. STATISTIK 36

VI. DISKUSSION 42

VII. ZUSAMMENFASSUNG 57

VIII. LITERATURVERZEICHNIS 59

I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Durch Untersuchungen von Brambell (15), Andre (3), Walker (10) und Seifert (23) wurde festgestellt, daß großmolekulare Proteine durch die Darmwand ohne vorherige enzymatische Spaltung dringen können und danach in Blut und Lymphe nachweisbar und wirksam sind (Seifert, 1976) (84). Darüberhinaus wurde festgestellt, daß die Proteine, die durch Resorption in die Blutbahn gelangt sind, keine Sensibilisierung verursachen. Diese und andere Arbeiten (z.B. Thomas und Parrott (92), 1974 und Andre et al (4), 1975) führten dann zu der Frage, ob es möglich ist, eine systematische Toleranz auf enteralen Wege zu induzieren, wenn der Organismus bereits sensibilisiert ist.

Nach der heutigen Erkenntnissen weiß man, daß, wenn ein spezifisches Antigen direkt in den Kreislauf eines sensibilisierten Organismus injiziert wird, es zu einer schweren Kreislaufreaktion bis zum anaphylaktoiden Schock kommen kann. Schon im Jahre 1946 zeigte Chase (26), daß Kaninchen die erst mit Dinitrochlorobenzin (DNCB) oral vorbehandelt wurden, eine verminderte Sensibilität gegenüber dieser Substanz aufwiesen, wenn diese parenteral verabreicht wurde. De Weck et al. (29), konnte am Beispiel des Penicillins und Richter et al. (76), bzw. Meßmer et al. (61) am Beispiel des

Dextrans nachweisen, daß die intravenöse Applikation von niedermolekularen Bruchstücken zu einer Hemmung der Immunantwort führt. Das Prinzip dieser Hemmung besteht nach Meßmer et al. (61) darin, daß ein niedermolekulares Bruchstück eines Antigens meist nur eine antigene Determinante besetzen kann, zur Auslösung einer anaphylaktoiden Reaktion jedoch alle gleichzeitig besetzt werden müssen.

Da antigene Proteine in den Magen-Darmtrakt normalerweise degradiert werden und sowohl Bruchstücke als auch Aminosäuren bzw. ganze Proteine resorbiert werden, sollte die Frage geklärt werden, ob die im Magen-Darmtrakt erzeugten und resorbierten niedermolekularen Bruchstücke ebenfalls in der Lage sind, eine vorhandene Immunantwort zu vermindern.

Das Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob ein zirkulierender Antikörper durch enteral verabreichtes Antigen blockiert oder eventuell sogar reduziert werden kann. Gleichzeitig wurden Kreislaufparameter wie Blutdruck und Organdurchblutung gemessen, um festzustellen, ob die anaphylaktoide Kreislaufreaktion ebenfalls davon beeinflußt wird. Wenn es möglich ist, zirkulierende Antikörper durch die Zufuhr von Nahrungsmittelantigenen zu hemmen oder zu reduzieren, hätte dieser Mechanismus auch therapeutische Konsequenzen.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. OUCHTERLONYS, AGARGEL DOPPELDIFFUSIONSTEST

Dabei wurden 4,5 g Agar purum (Fa. Behringwerke, Marburg) in 100 ml. Michaelispuffer (pH 8,2) plus 200 ml. destilliertes Wasser und weiterhin wurden 0,6 g Agar purum in 10 ml. Michaelispuffer plus 20 ml. destilliertes Wasser gelöst und 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Daraus bekommt man einen 1,5% -igen und einen 2% -igen Agar. Dann wurde 5 g Cialit (Asid Institut, München) hinzugefügt, kurz aufgekocht und in einem 80° warmen Wasserbad bis zum Gebrauch aufbewahrt. Dann wurde auf entfetteten Objektträgern ein dünner Film von dem 2% -igen Agar aufgetragen und im Hitzeschrank bei 60° C circa eine viertel Stunde getrocknet.

Nach Aushärtung wurden 7 Löcher mit einer Stanze ausgestochen. In die peripheren Löcher wurde das Antigen und in das mittlere Loch der Antikörper eingefüllt. Die so behandelten Objektträger wurden dann in feuchten Kammern für 24 Stunden mit Zusatz von Thymol als Bakteriostatikum gelegt. Um ungefälltes Eiweiß auszuwaschen, wurden die Proben anschließend 48 Stunden lang in mehrmals erneuerter 0,9% NaCl gewässert. Daraufhin wurden die Präzipitate mit Amidoschwarz angefärbt und das nicht gebundene Färbe-

mittel wieder mit einem Eisessig-Methylalkohol Gemisch (1:9) entfernt. Am Ende wurden die Objektträger Luft getrocknet (70).

2. RADIOIMMUNASSAY

Bei den hier durchgeführten Tests wird das Antigen (HGG) an eine feste Phase (Sepharose) adsorbiert und anschließend mit dem zu untersuchenden Serum inkubiert. Danach wird eine bekannte Menge eines radioaktiv markierten Antikörpers hinzugegeben, der sich mit dem nicht gebundenen Sepharose-Antigen bindet. Die an den Sepharose-Antigen-komplex gebundene Radioaktivität ist indirekt proportional dem in der Untersuchungsprobe vorhandenen Antikörper.

In diesen Versuchen wurde Serum von sensibilisierten Kaninchen als Standard verwendet und dazu wurden 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,4 plus 1,0 M NaCl 0,9% dazu 0,25 ml. I^{131}-markierten Hunde-Anti-HGG Serum plus 1,0 ml. Intraglobin (HGG, Fa. Biotest) gekoppelt an Sepharose hinzugegeben. Um die Komplexbildung zu verbessern, wurde der Sepharose ein Emulgator hinzugefügt und zwar 1% Tween (20) Polyoxyäthylensorbitanmonolaurat plus 5% Polyäthylen-glykol (4000).

Dann wurden bei Zimmertemperatur alle Proben circa 15 Stunden gemischt. Am nächsten Tag wurden die Proben mit 2 ml. Pufferlösung gewaschen und 10 Minuten bei 3500 UPM zentrifugiert und anschließend mit einer Pipette der Überstand

sorgfältig entfernt. Dann wurden 2 ml: Pufferlösung hinzugefügt, gemischt, zentrifugiert und dreimal gewaschen.

Gemessen wurden die Proben, d.h. das Serum von Tieren der Gruppe 1 und Tieren der Gruppe 2, welches zu den in Kapitel III. 1. „Versuchstiere" angegebene Zeitpunkten entnommen worden war. Ausgewertet wurde nach der Kurvenanpassungsmethode der linearen Regression.

Um eine gravimetrische Bestimmung d.h. eine quantitative Aussage machen zu können, wurden die Antikörperkomplexe ausgewogen. Dazu wurden Kaninchen-HGG-Serum plus Intraglobin als Antigen inkubiert, zentrifugiert und dreimal gewaschen und anschließend mit einer Analysenwaage gewogen. Diese wurde mit normalen Kaninchenserum als Kontrolle durchgeführt und mit dem obengenanten Antiserum verglichen.

3. MARKIERUNG DER PROTEINE MIT JOD^{125} BZW. JOD^{131}

Hier wurde die Methode von Franks, Takeda und Reeve (37) verwendet. Das zu markierende Protein wurde zusammen mit einem Glyzinepuffer in Verhältnis 1:0,5 in eine über einem Glasmantel auf 0° C gekühlte Glaskammer gefüllt. Dann wurden 100 μCi NaJ^{125} gepuffert in einer Natriumthiosulfatlösung (spezifische Aktivität 0,98 mCi/ml (10g J) (Fa. Buchler, Amersham, Braunschweig) mit einer physiologischen Kochsalzlösung auf ein Volumen von 1 ml. verdünnt. Dann wurden 4 Tropfen einer 1N HCl hinzugefügt, dieses auf 40° C erhitzt und

darauf wieder schnell auf 4° C abgekühlt. Nach Erreichen dieser Temperatur wurde tropfenweise ein inaktiver Na-Jodat Puffer (50 mg NaJ+200mg Na JO_3) hinzupipettiert, bis durch Oxydation graubraunes Jod entstanden war. In diesem Form wurde das radioaktive Gemisch in die Glaskammer eingefüllt, in der sich das gepufferte Protein befand. Bei gelungener Markierung bildet sich ein violetter Ring, der durch intensives Rühren schnell wieder verschwand. Das in der Markierungskammer befindliche Protein hatte nun wieder seine ursprüngliche Farbe. Unter diesen Voraussetzungen hatte sich das radioaktive Jod an die Doppelbildungen des Tyrosinringes geheftet. Am Ende wurde dem Gemisch in der Kammer zusätzlich einige Tropfen einer 1/10N HCl hinzugefügt.

4. TRENNUNG DER MARKIERTEN PROTEINE VON DEM UNGEBUNDENEN INDIKATOR

Nach Markierung der Proteine mit J^{125} findet man in dem Gemisch immer noch ungebundene, freie Radioaktivität. Dieses noch ungebundene freie J^{125} wurde mittels einer Gelchromatographie Sephadexsäule (Sephadex superfein G-25, Fa. Pharmacia, Schweden) getrennt. Eine gute Trennung ist möglich, weil beide zu trennenden Substanzen in ihrem Molekulargewicht sich sehr stark unterscheiden. Bei der Elution dieser Säulen kommt zunächst das radioaktiv markierte Protein und deutlich getrennt und später das nicht gebundene Jod^{125} heraus. Für die parenterale Gabe der Substanzen wurde der ganze Markierungs und Chromato-

graphieprozeß steril durchgeführt. Zusätzlich wurde das markierte Endprodukt durch einen 0,22μ Swinnex Milliporefilter (Fa. Millipore, Neu-Isenburg) steril filtriert. Mit Trichloressigsäure (10%) bzw. auch Perchlorsäure (3%) wurde festgestellt, daß die fällbare Aktivität bei über 99% lag. Die Bindung der J^{125} Aktivität an ungespaltenes HGG wurde auch mit einer chromatographischen Trennung mit Sephadex (G-200) bestätigt. In den meisten Fällen erfolgte die Weiterverwendung der markierten Proteine sofort, selten im Zeitraum von 3 Tagen nach der Markierung.

5. METHODIK DER SZINTILLATIONSZÄHLUNG FÜR GAMMA-STRAHLEN

Die Zählproben wurden in einem auf 4°C gekühlten Vielkanalspektrometer der Firma Packard gemessen. Das Prinzip dieses Geräts besteht darin, daß das Energiespektrum der gemessenen Nuklide auf einem Bildschirm dargestellt wird. Auf elektronischem Weg können sog. „regions of interest" herausgegriffen werden, die representativ für die verwendeten Isotope sind. Damit können sehr einfach zwei und mehrere Nuklide unterschieden werden. Die gemessene Radioaktivität wird als Impulse pro Minute ausgedrückt (ipm,cpm) und pro Gramm Gewebe berechnet.

6. MESSUNG DES ARTERIELLEN BLUTDRUCKES

In allen Versuchen wurde der arterielle Blutdruck kontinuierlich gemessen. Er wurde mit einem Statham-Element P-23D in einem Hellige Kreislaufrekorder mit Multiskriptor registriert. Der Statham-Druckwandler war mit einem PVC- Katheter (Durchmesser:3mm) in der Arteria carotis verbunden, dessen Spitze in der linken Herzkammer lag.

7. DURCHBLUTUNGSMESSUNGEN MIT RADIOAKTIVEN KUGELN

Für eine gleichmäßige Verteilung der radioaktiven Kugeln im Gewebe ist ihre vollständige Mischung im arteriellen Blut eine absolute Voraussetzung. Ausreichend für alle Organmessungen mit Ausnahme des Herzens ist die Injektion der Kugel in den linken Ventrikel (59, 22, 36, 42, 79). Von folgenden Faktoren hängt die Verteilung der Kugeln ab: der Kugelgröße, Ihrem spezifischem Gewicht sowie den kreislaufmäßigen Besonderheiten des zu untersuchenden Organs (22, 42).

Aus rheologischen Gründen ist eine den roten Blutkörperchen entsprechende Größe der Kugel am vorteilhaftesten (9), wobei ein signifikant anderes Strömungsverhalten allerdings erst von einer Kugelgröße ab 20-25 µ beobachtet wurde. Mit Kugelgrößen unterhalb dieses Bereiches kann man die Mikrozirkulation gut messen. Aufgrund ihrer flußentsprech-

enden Verteilung wurden für die Durchblutungsmessungen am Magen die von Delaney und Grim (28), 15 μ Kugeln besonders empfohlen. Sie erfüllen die Forderung, den echten nutritiven Fluß zu messen (42) und haben gegenüber den kleineren 8 μ Partikeln den Vorteil einer noch geringeren Rezirkulation von 1% (5, 28, 42), gegenüber 3% bei der 8 μ Kugel (42).

Die Annahme einer linearen Beziehung zwischen Radioaktivität und Durchblutung ist die Grundlage der Berechnung des Blutflußes in den Organen. Dem entspricht folgende theoretische Überlegung: Der Fluß in der Aorta (Q) ist gleich der Summe des Flußes in den verschiedenen Arterien, die in Serie mit der Hauptstammarterie gekoppelt sind. Die Zahl der sphärischen Kugeln bzw. der Betrag der Radioaktivität in den verschiedenen Teilen des arteriellen Systems muß dann direkt propotional dem Fluß sein (22, 36).

Die Errechnung der absoluten Durchblutung aus der Radioaktivität eines Gebietes wird durch den Vergleich der Impulsrate eines Gebietes mit der eines anderen, deren Fluß bekannt ist, ermöglicht (57). Dieses Prinzip verwirklicht die Referenzflußmethode (22).

Dazu wird aus einer peripheren Arterie während der intrakardialen Injektion und der Zirkulation der Kugeln eine bestimmte Menge Blut, die Referenzprobe, mit einer Zugpumpe entnommen. Eine uniforme Verteilung der Kugeln im peripheren Blutstrom ist durch eine gleichzeitige Abnahme aus verschiedenen peripheren Arterien bestätigt (5, 22, 42, 57).

Die Relation dieser Flußrate in der Zugpumpe mit der darin enthaltenen Radioaktivität ist auf die Organe des Versuchtiers nach folgender Formel übertragbar:

$$\text{Gewebsdurchblutung (ml/g x Min)} = \frac{\text{Gewebsradioaktivität (CPM)} \times \text{Referenzradioaktivität (ml/g x Min)}}{\text{Referenzradioaktivität (CPM)}}$$

Im Gegensatz zur Gewebsdurchblutung erfordert die Berechnung des Herzzeitvolumens die Kenntnis der zugeführten Gesamtradioaktivität:

$$\text{HVZ} = \frac{\text{Gesamtradioaktivität (CPM)}}{\text{Refererenzradioaktivität (CPM)}} \times \text{Referenzfluß/Min.}$$

Mit Hilfe der Referenzflußmethode hat die Berechnung der Gewebsdurchblutung gegenüber der Kalkulation mit Hilfe des HZV's einige wesentliche Vorteile (5, 9, 22, 32, 59):

1. Weil nur eine Zugpumpe und ein arterieller Katheter benötigt werden, ist dieses Verfahren einfacher.

2. Weil der injizierte Radioaktivitätsbetrag nicht bekannt zu sein braucht, ist sie verläßlicher. Die Bestimmung der gesamten zugeführten Radioaktivität ist aus isotopentechnischen Gründen im normalen Gammaspektrometer er-

schwert, denn dieser Betrag kann nur indirekt über Aliquots errechnet werden. Außerdem sind Aktivitätsverluste bei der Injektion der Kugeln in das Versuchstier möglich und die Restaktivität in Injektionsspritzen und Kathetern muß abgezogen werden.

3. Physiologische Momentanschwankungen werden durch gleichzeitige Bestimmung von Referenz-und Gewebsdurchblutung ausgeschlossen. Im Gegensatz zu Meßmethoden mit zeitlich verschobener Erfassung dieser beiden Parameter.

4. Irrtümer durch HZV-Messungen mit einer anderen unabhängigen Methode werden vermieden.

5. Ein weiterer Vorteil der Durchblutungsmessung mit Microspheres besteht darin, daß zwischen den einzelnen Wandschichten differenziert werden kann. Messungen zu unterschiedlichen Zeiten oder pathophysiologischen Veränderungen können durch verschiedene radioaktive Markierungen diskriminiert werden.

Aus diesen Gründen ist die Referenzflußmethode zur Messung der regionalen Oberbauch-und Magendurchblutung eine der genauesten.

Die Genauigkeit der Methode hängt unter anderem auch von der Zahl der injizierten Kugeln. Es wurde nachgewiesen (22), daß in jeder untersuchten Gewebsprobe eine Mindestzahl von 400 Kugeln vorhanden sein muß. Bei einer geringeren Zahl steigt die Streuung der Meßwerte stark an.

Schließlich spielen die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Kugeln, sowie die Konfiguration und Art des Materials, die Haltbarkeit in den Körpergeweben und die

Bindungsfähigkeit an radioaktive Substanzen, für ihre praktische Anwendung eine wichtige Rolle. Weitere Vorteile dieser Kugeln sind ihre uniforme Größenverteilung, die vielfältigen und stabilen Markierungsmöglichkeiten durch Inkorporation der Nuklide und ihre Resistenz gegen alle bekannten Lösungsmittel (9, 22).

III. VERSUCHSTIERE UND VERSUCHSGRUPPEN

1. VERSUCHSTIERE

In diesen Versuchen wurden Bastard-Kaninchen beiderlei Geschlechtes verwendet, die zwischen 3 und 5 Kg. gewogen haben (Fa. Riedel, München). Die Tiere wurden mit Altromin-K-2023 (Altromin GmbH, Lage) und Wasser ad libitum gefüttert. Die Kaninchen wurden paarweise in Käfigen gehalten.

2. IMMUNISIERUNG DER KANINCHEN

Wie in Abb. 1 gezeigt, wurden 40 Kaninchen mit menschlichem Gamma Globulin über einen Zeitraum von sechs Wochen immunisiert. Dazu bekamen die Kaninchen 50 mg. Human Gamma Globulin (HGG) (Fa. Behringwerke, Marburg), zusammen mit 1,0 ml. kompletten Freundschem Adjuvans (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA) tief intragluteal zweimal pro Woche injiziert. In der Regel hatten sie nach sechs Wochen präzipitierende Antikörper im peripheren Blut gebildet, die mit dem Agargel-Doppeldiffusionstest nach Ouchterlony nachgewiesen wurden.

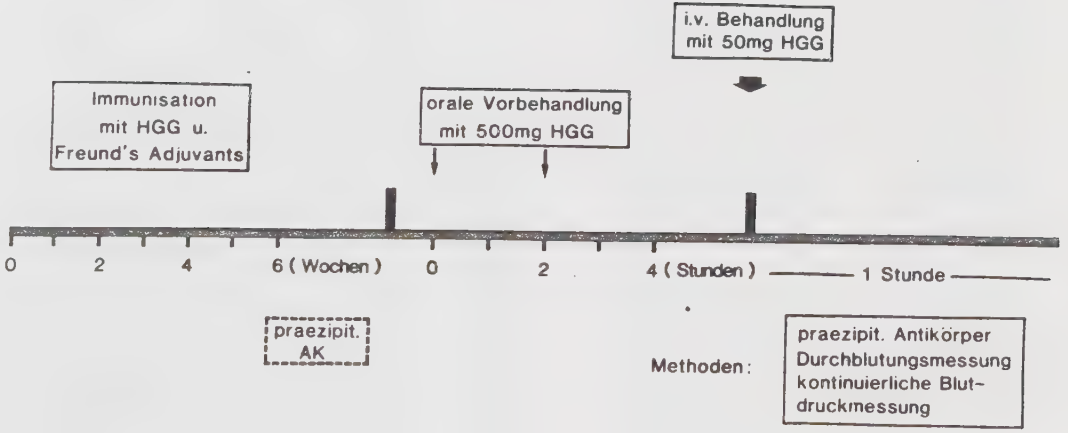


ABB. 1. VERSUCHSANORDNUNG BEI DEN KANINCHEN

3. VERSUCHSABLAUF DES EXPERIMENTES

Für die Versuche wurden 40 Tiere in zwei Gruppen aufgeteilt. Gruppe 1: Zwanzig Tiere, die mit 1,0g HGG oral vorbehandelt wurden, also das Antigen mittels eine Magensonde verabreicht bekamen. Gruppe 2: Zwanzig Tiere ohne orale Vorbehandlung, also Kontrolltiere.

Die orale Vorbehandlung, siehe Abb. 1, wurde in zwei Portionen vorgenommen. Am Beginn und nach zwei Stunden erhielten die Kaninchen jeweils 500 mg HGG enteral verabreicht. Nach insgesamt 4 Stunden Resorptionszeit wurden die Tiere zur Messung des Blutdruckes und der Durchblutung mit Brevimytal (Fa. Lily,Gießen) je nach Bedarf narkotisiert.

In Narkose wurde bei jedem Tier die Arteria carotis und die Arteria femoralis freipräpariert und mit einem Polyäthylenkatheter kanüliert. Der Carotiskatheter wurde sowohl für die Blutdruckmessung, als auch für die Injektion von radioaktiv markierten Microspheres benutzt.

4. ANTIGENEXPOSITION

Nach erfolgreicher Preparation, wurde bei allen Tieren eine i.v. Antigenexposition mit 50mg HGG durchgeführt. Der Blutdruck wurde dabei und im Anschluß über eine Stunde beobachtet. Bei sehr starkem Blutdruckabfall bekamen die Tiere 30ml 0,9% NaCl (maximum) als Volumensubstitution.

Bei Bedarf wurden die Kaninchen mit Herzmassage und künstlicher Beatmung wiederbelebt, was sehr häufig bei Kontrolltieren notwendig war.

Bei allen überlebenden Tieren wurde nach Konsolidierung des Blutdruckes die Durchblutungsmessung mit radioaktiv markierten Microspheres durchgeführt. Sie wurden in eine Dosierung von 0,1ml. in 1,0ml. 0.9% NaCl ohne Zusätze intracardial verabreicht. Das entspricht etwa einer Million Kugeln. Das Referenzsample wurde über die ganze Applikationszeit entnommen, welche durchschnittlich 30 Sekunden dauerte. Bei mehr als der Hälfte der Tiere wurde die Antigen-Exposition mit radioaktiv markiertem Antigen durchgeführt. Damit sollten eventuelle Umverteilungen des Antigens bei enteral vorbehandelten Tieren im Vergleich zu unbehandelten Tieren festgestellt werden.

Am Versuchsende wurden dazu folgende Organe entnommen: Die Milz, Leber, Lunge, Muskel, Magen, Darm, eine Niere und das Blut. Die Organe wurden gewogen und in ein Zählröhrchen eingefüllt. Die Radioaktivität wurde in dem Multichannel Gamma-Szintillationszähler (Fa. Packard,USA), gemessen.

Die Diskriminierung zwischen Durchblutungsmessung und Antigenverteilung erfolgte durch verschiedenartige radioaktive Markierung mit I^{125}, Cr^{51} bzw. Nb^{95}. Die Verteilung des radioaktiv markierten Antigens wurde auf ein Gramm Organ umgerechnet und weiterhin ins Verhältnis zu der insgesamt verabreichten Radioaktivitätsdosis gesetzt.

5. BLUTABNAHME FÜR IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

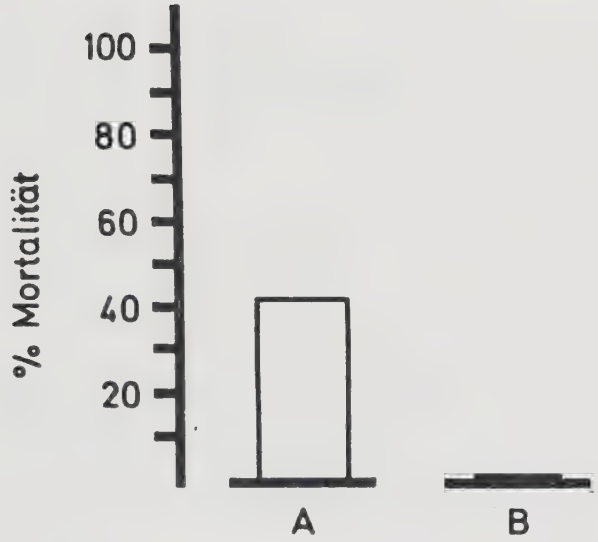
Blut wurde aus einer Ohrvene eine Stunde vor Versuchsbeginn, nach der Immunisierung, während und nach der oralen Antigengabe, und nach der i.v. Antigenexposition für immunologische Teste (RIA) abgenommen.

IV ERGEBNISSE

1. MORTALITÄTSRATE

Normalerweise wird eine Erstinjektion eines Fremdproteins von Kaninchen ohne eine kreislaufbeeinflussende Nebenwirkung vertragen. Wenn die Tiere aber Zeit gehabt haben, Antikörper in genügender Menge auszubilden, kann die nochmalige i.v. Zufuhr des Antigens, im Rahmen einer Antigen-Antikörper-Reaktion mit nachfolgendem Blutdruckabfall, innerhalb weniger Minuten zu einer lebensbedrohlichen Situation führen.

In den vorliegenden Versuchen starben 42% der Kontrolltiere, siehe Abb. 2, nach i.v. Antigenexposition. Das ist damit erklärbar, daß die Kaninchen präzipitierende Antikörper hatten, wodurch es nach i.v. Applikation des Antigens zu einer Antigen-Antikörperreaktion kam, mit den bekannten kreislaufbeeinflussenden Folgereaktionen: Es könnte möglich sein, daß dieser Prozentsatz noch höher liegt, wenn man die Tiere nicht nur 15 Minuten, sondern eine noch längere Zeit beobachtet hätte. Das bedeutet, daß von 12 Tieren nur 7 Tiere 15 Minuten überlebt haben. Drei von diesen sieben Tieren sind ebenfalls noch gestorben, dabei konnte der Tod nicht eindeutig auf die Antigenexposition zurückgeführt werden. Deswegen wurden sie in die Betrachtung der Mortalitätsrate nicht mit einbezogen.



A: Mortalität ohne orale Vorbehandlung : 42 %
B: Mortalität mit oraler Vorbehandlung : 0 %

ABB. 2. MORTALITÄTSRATEN

Ganz anders verhalten sich die Tiere die oral vorbehandelt waren. Wie die Abbildung zeigt, überlebten sie alle die i.v. Antigenexposition über den Beobachtungszeitraum von 15 Minuten, aber auch die Zeit von 90 Minuten.

Wie sich die Mortalitätsrate über einen noch längeren Beobachtungszeitraum, also Tage oder Wochen, entwickelt, ist nicht geprüft worden. Es ist durchaus möglich, daß weitere Komplikationen über einen längeren Zeitraum über ein „Delayed type hypersensitivity" oder aber auch durch eine Serumkomplex-Krankheit eintreten können.

Mit diesen Ergebnissen ist jedoch eindeutig gezeigt worden, daß man bei sensibilisierten Tieren durch eine orale Gabe des Antigens die Mortalitätsrate, welche durch eine i.v. Antigenexposition verursacht wird, senken kann.

2. IMMUNOLOGISCHE PARAMETER

Nachdem gezeigt werden konnte, daß die schockähnliche Kreislaufreaktion als Folge einer Antigen-Antikörperbildung in vivo durch die orale Gabe des Antigens abgeschwächt oder verhindert werden kann, und es naheliegt, daß es zu einer Bindung von Antikörpern im Bereich des Magen-Darmtraktes kommt, wurde versucht, mit Hilfe eines Radioimmunassays eine mögliche Verminderung der zirkulierenden Antikörper durch orale Antigen-Vorbehandlung zu verifizieren.

Weil der Agargel-Doppeldiffusionstest zu dieser Frage keinen Aufschluß gegeben hatte, wurde für die Klärung dieser

Frage eigens ein Radioimmunassay entwickelt. Da der Radioimmunassay sowohl empfindlich als auch hoch spezifisch ist, erlauben die Ergebnisse dieser Untersuchungsmethode eine differenzierte Aussage über Veränderungen der zirkulierenden Antikörper während und nach Fütterung mit dem Antigen.

Bei den Kontrolltieren wurde der Antikörpergehalt vor und nach der i.v. Applikation von HGG bestimmt. Wie die Abb 3 zeigt, vermindert sich der Antikörpergehalt von 350 ug/ml. vor der i.v. HGG Gabe zu 325 ug/ml. nach der i.v. Gabe von HGG im zirkulierenden Blut. Diese Verminderung ist relativ gering und beträgt circa 10% vom Ausgangswert und ist statistisch nicht signifikant. Die orale Vorbehandlung führt wie in die Abb. 4 gezeigt, zu einer deutlichen Abnahme von 370 ug/ml. auf 270 ug/ml. des Anti-HGG Antikörpergehaltes, sowohl nach der ersten als auch nach der zweiten Fütterung ist diese Reduktion der zirkulierenden Antikörper sehr ausgeprägt. Diese Abnahme beträgt, auf den Ausgangswert bezogen 35%. Was bislang unerklärbar ist, ist der geringfügige Anstieg bei diesen Tieren zum Zeitpunkt E, der offensichtlich durch die i.v. Gabe des Antigens verursacht wird. Man muß sich überlegen, ob die im Magen-Darmtrakt abgebundenen Antikörper durch das i.v. zugeführte Antigen eventuell mobilisiert werden.

Dieser Antikörperabfall durch die orale Gabe des Antigens könnte verantwortlich sein für die beobachtete Verminderung des Kreislaufreaktion.

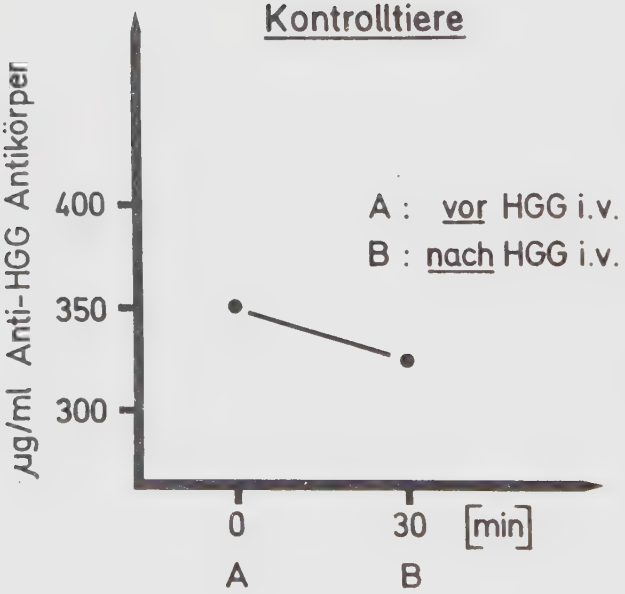


ABB. 3. BESTIMMUNG DES ANTI-HGG-ANTIKÖRPERS VOR UND NACH i.v. GABE DES HGG's BEI DEN KONTROLLTIEREN

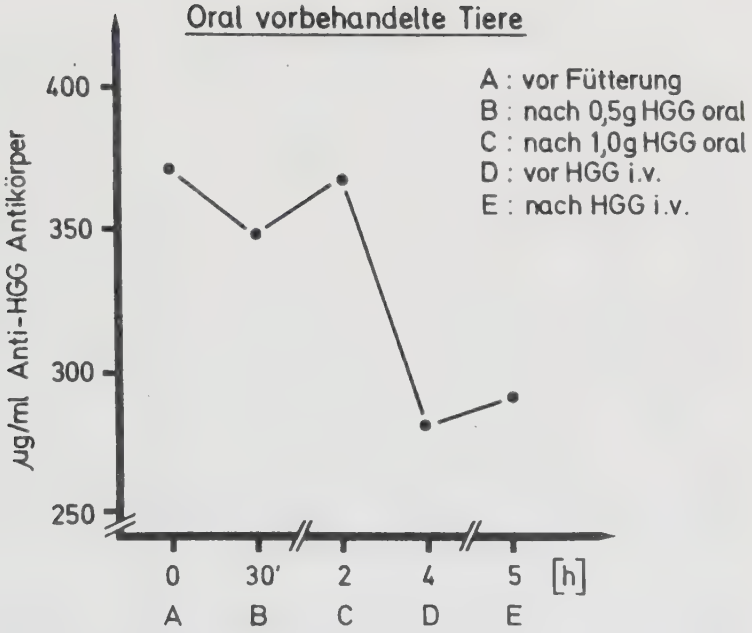


ABB. 4. ANTIKÖRPERGEHALT IM ZIRKULIERENDEN BLUT ZU VERSCHIEDENEN ZEITPUNKTEN DES VERSUCHES

3. DIE VERTEILUNG VON RADIOAKTIV MARKIERTEM HGG

Bei diesen Bestimmungen handelte es sich um den Versuch, Aufschluß zu bekommen über den Verbleib des i.v applizierten Antigens bei sensibilisierten Tieren. Dabei war klar, daß man mit den Ergebnissen dieser Untersuchungen keine endgültigen Aussagen machen kann, da letztlich nur Radioaktivität gemessen wurde, es aber zu Antigen-Antikörperkomplexen kommen kann, die durch die Radioaktivität des Antigens markiert sind. Weiterhin können diese Antigen-Antikörperkomplexe phagozytiert werden. Dann befindet sich die Radioaktivität in den phagozytierenden Zellen. Ein Antigen-Antikörperkomplex kann im Kapillargebiet der Lunge und Niere, wenn er genügende Größe hat, gefiltert werden. Wenn der Antigen-Antikörperkomplex abgebaut wird, entstehen dabei Spaltprodukte die radioaktiv markiert sind. Auch das Antigen per se unterliegt einer Metabolisierungsrate.

Mit dieser Überlegung müssen die in den Organen gemessenen Verteilungswerte betrachtet werden. Es fällt auf, daß in der Niere bei den Kontrolltieren die Radioaktivität höher liegt als bei den oral vorbehandelten Tieren: 0,024 %cpm/g gegen 0,019 %cpm/g. In der Lunge dagegen, Leber und Milz, wie die Abb. 6 zeigt, ist dieses Verhältnis umgekehrt.

Betrachtet man nun die Verteilung des radioaktiven Antigens im Magen-Darmtrakt, siehe Abb. 5, so ist wiederum die Radioaktivität der Gewebestücke der Kontrolltiere in den meisten Fällen höher als bei den oral vorbehandelten Tieren, wie zum Beispiel im Antrum des Magens ist die J^{125}-markierte

J^{125}-Markiertes Antigen (i.v. HGG)

	oral		Kontrolle	
	$\bar{x}$	$s\bar{x}$	$\bar{x}$	$s\bar{x}$
Antrum Gesamtwand	0,002 ± 0,001		0,002 ±	0
Fundus-Corpus Gesamtwand	0,004 ± 0,001		0,006 ± 0,001	
Duodenum	0,004 ± 0,002		0,006 ± 0,001	
Jejunum	0,003 ± 0,001		0,005 ± 0,001	
Ileum	0,003 ± 0,001		0,005 ± 0,001	
Colon	0,002 ±	0	0,004 ± 0,001	

ABB. 5. DIE VERTEILUNG DES RADIOAKTIVEN ANTIGENS IM MAGEN-DARMTRAKT

J^{125}-Markiertes Antigen (i.v. HGG)

	oral		Kontrolle	
	$\bar{x}$	$s\bar{x}$	$\bar{x}$	$s\bar{x}$
Milz	0, 103	± 0, 021	0, 071	± 0, 052
Leber	0, 210	± 0 047	0, 140	± 0, 050
Lunge	0, 300	± 0. 140	0, 130	± 0, 100
Muskel	0, 003	± 0, 001	0, 006	± 0, 003
Niere	0, 019	± 0. 004	0, 024	± 0, 004

ABB. 6. DIE VERTEILUNG DES RADIOAKTIVEN ANTIGENS IN DER MILZ, LEBER, LUNGE, MUSKEL UND NIERE

Antigenaktivität 0,002 %cpm/g bei den oral vorbehandelten Tieren und 0,006 %cpm/g bei den Kontrollen. Im Fundus-Corpus und im Duodenum sind die Aktivitäten jeweils 0,004 %cpm/g bei den behandelten Tieren und 0,006 %cpm/g bei den Kontrolltieren. Im Jejunum und Ileum sind die Aktivitäten jeweils 0,003 %cpm/g bei den oral vorbehandelten Tieren und 0,005 %cpm/g bei den Kontrolltieren.
Bei den oral vorbehandelten Tieren werden sonst die Organe des Retikuloendothelialsystems stärker beansprucht werden als bei den Kontrolltieren. Im Bereich des Magen-Darmtraktes ist die Anreicherung der Radioaktivität bei den oral vorbehandelten Kaninchen wahrscheinlich mit einer Antigen-Antikörperkomplexbildung zu erklären.

4. BLUTDRUCK

Da die Mortalitätsrate das Endprodukt einer Kreislaufreaktion ist, sind in diesem Zusammenhang besonders Veränderungen des arteriellen Mitteldruckes interessant. Dabei ist es vorstellbar, daß ein Blutdruckabfall nach einer Antigen-Antikörperreaktion durch die Aktivierung von Mediatorsubstanzen wie vor allen Dingen Serotonin und Histamin zustande kommt.

In Rahmen dieser Arbeit wurde auf die Bestimmung freigesetzter Mediatoren jedoch verzichtet und zunächst nur der Blutdruck gemessen.

Da der Blutdruck bei allen Tieren in Narkose bestimmt wurde, war es notwendig das Verhalten dieses Parameters

unter Brevimytalwirkung bei sonst völlig normalen Tieren zu kontrollieren, siehe Abb. 7. Der dargestellte Balken zeigt, daß der mittlere arterielle Blutdruck unter der gewählten Narkose bei durchschnittlich 110 mm Hg liegt und nur eine geringe Schwankungsbreite von 105 mm Hg bis 114 mm Hg aufweist. Die gestrichelte Linie stellt das Blutdruckverhalten von sensibilisierten Kontrolltieren nach i.v. Antigenexposition dar. Wie man sieht, fällt bei diesen Tieren unmittelbar nach der parenteralen Applikation des Immunogens der Blutdruck von durchschnittlich 110 mm Hg auf durchschnittlich 45 mm Hg ab. Innerhalb der darauffolgenden 30 Minuten ist ein leichter Anstieg zu beobachten auf durchschnittliche Werte von 65 mm Hg. In der nachfolgenden Beobachtungszeit bleibt der Blutdruck praktisch unbeeinflußt bei diesem Wert.

Ganz anders verhalten sich sensibilisierte Tiere die mit dem Antigen oral vorbehandelt worden sind. Bei diesen Tieren fällt einmal der Blutdruck von durchschnittlich 110 mm Hg auf nur 60 mm Hg ab. Innerhalb von 30 Minuten steigt er jedoch auf durchschnittlich 97 mm Hg an. Das bedeutet, daß der Ausgangswert nahezu wieder erreicht wurde. Dieser Anstieg unterscheidet sich signifikant von dem der Kontrolltiere. Somit kann gesagt werden, daß oral vorbehandelte Tiere innerhalb von 30 Minuten einen nahezu normalen Blutdruck aufweisen, obwohl sie einer i.v. Antigenexposition ausgesetzt waren. Selbst eine noch längere Beobachtungszeit als hier dargestellt, bringt keine Änderung in dem beobachteten Phänomenen der Blutdruckrestitution bei oral vorbehandelten Tieren.

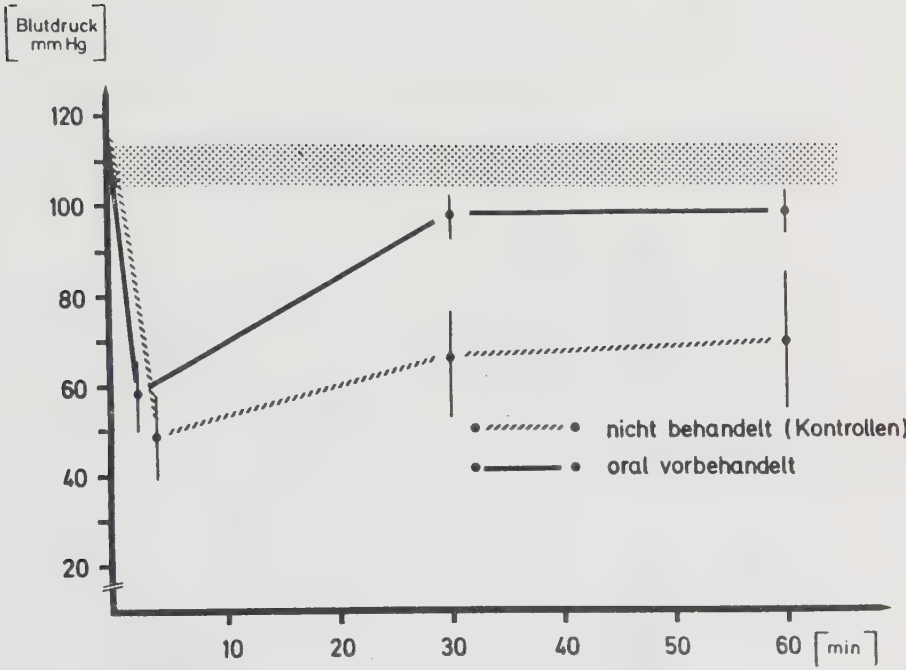


ABB. 7. BLUTDRUCKWERTE WÄHREND DES VERSUCHES

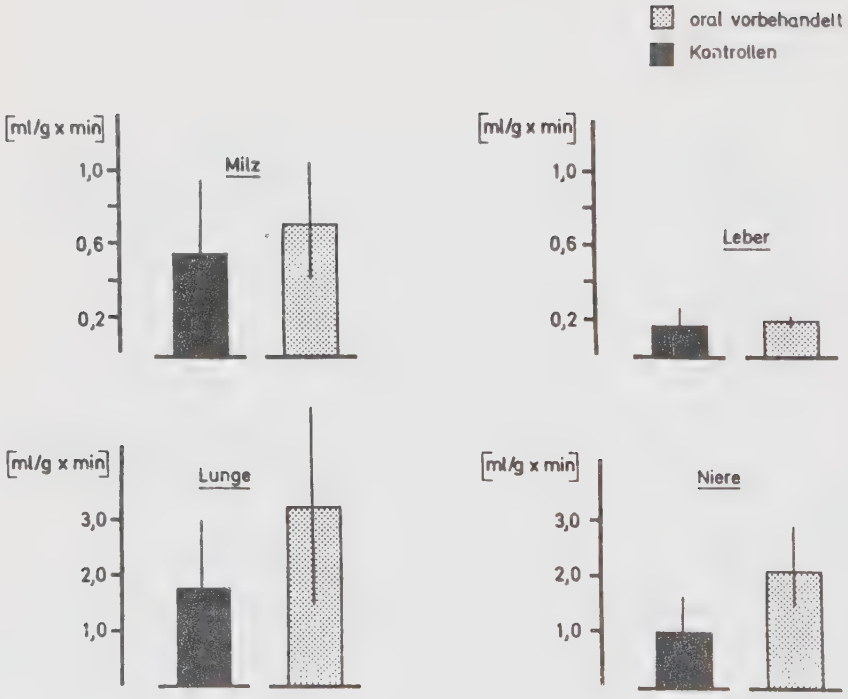


ABB. 8 DURCHBLUTUNG DER MILZ, LEBER, LUNGE UND NIERE BEI KONTROLL- UND ORAL VORBEHANDELTEN TIEREN.

Weiterhin fällt bei der Beobachtung des Blutdruckverhaltens auf, daß eine zeitliche Verschiebung der Blutdrucktiefstwerte bei beiden Gruppen vorhanden ist. Während mit oraler Vorbehandlung der Blutdruckabfall nach durchschnittlich 2 Minuten stattgefunden hat, tritt dieser ohne Vorbehandlung verzögert, nämlich nach durchschnittlich 5 Minuten auf.

5. ORGANDURCHBLUTUNG

Eine so starke Veränderung im arteriellen Blutdruck wie sie nach Antigenexposition beobachtet worden ist, muß auch einen Einfluß auf die Durchblutung lebenswichtiger Organe haben. Eine verminderte Organdurchblutung kann einmal durch eine relative Hypovolämie nach einer Umverteilung des Blutes bzw. Plasmas aber auch durch eine direkte Beeinflußung des Herz-Zeitvolumens entstehen.

Wie die Abb. 8 zeigt ist an der Lunge als einem der wichtigstem Schockorgane beim Kaninchen die größte Differenz zwischen der Durchblutung oral vorbehandelter und der Kontrolltiere: (3,2 ml/g x Min. im Vergleich zu 1,77 ml/g x Min.) festzustellen. Der nächst größere Unterschied ist an der Niere zu sehen und zwar 2,11 ml/g x Min. bei den oral vorbehandelten Tieren im Gegensatz zu 1,05 ml/g x Min. bei den Kontrolltieren. Bei der Milz beträgt der Unterschied in der Durchblutung zwischen beiden Gruppen 0,71 ml/g x Min. bzw. 0,55 ml/g x Min. bei den Kontrollen. Die Leber zeigt lediglich eine Differenz von 0,19 ml/g x Min. nach oraler Vorbehand-

lung und 0,16 ml/g x Min. bei den Kontrolltieren. Insgesamt fällt auf, daß in allen Organen der Kontrolltiere die Durchblutung vermindert ist.

Die gleiche Tendenz ist auch im Magen-Darmtrakt festzustellen. Wie die Abb. 9 zeigt, liegen alle Werte der Kontrolltiere im Durchschnitt unter denen der oral vorbehandelten Tiere, eine Ausnahme bildet die Durchblutung des Colons die von der Behandlungsmaßnahme unbeeinflußt blieb. Im Duodenum liegen die Werte der Kontrolltiere bei 0,26 ml/g x Min., während die Werte der oral vorbehandelten Tieren bei 0,38 ml/g x Min. liegen. Einen etwa gleich großen Unterschied zeigt das Ileum, wobei bei den oral Vorbehandelten die Durchblutungswerte bei 0,35 ml/g x Min. liegen und 0,20 ml/g x Min. bei den Kontrolltieren. Im Jejunum sind die Durchblutungswerte 0,28 ml/g x Min. bei den oral Vorbehandelten und 0,19 ml/g x Min. bei den Kontrolltieren. Wie aus Abb. 10 ersichtlich ist, weichen die Durchblutungsänderungen im Magen nicht von der schon vorher beobachteten Tendenz ab, z. B. in der Antrumgesamtwand liegen die Werte bei 0,19 ml/g x Min. bei oral vorbehandelten Kaninchen und bei 0,089 ml/g x Min. bei den Kontrolltieren. Auch in der Fundus-Corpusgesamtwand können diese Unterschiede beobachtet werden und zwar 0,40 ml/g x Min. bei den oral Vorbehandelten auf 0,18 ml/g x Min. bei den Kontrollen.

Obwohl die Ergebnisse statistisch nicht abgesichert werden konnten, zeigen sie in allen Organen eine einheitliche Tendenz: durch die oral Vorbehandlung mit HGG scheint in allen Organen

eine bessere Durchblutung gewährleistet zu sein.

Eine statistische Analyse der Daten zeigt dabei, daß bei einer erhöhten Versuchszahl signifikante Unterschiede zu erwarten wären.

Darmdurchblutung ml/g x min

Kontrolltiere			oral vorbehandelte Tiere	
x	sx		x	sx
0, 262	±0, 117	1. Duodenum	0, 381	±0, 100
0, 190	±0, 088	2. Jejunum	0, 288	±0, 089
0, 205	±0, 098	3. Ileum	0, 356	±0, 118
0, 256	±0, 134	4. Colon	0, 235	±0, 074

ABB. 9 DURCHBLUTUNGSUNTERSCHIEDE IN DEN VERSCHIEDENEN DARMTEILEN BEI KONTROLLEN UND ORAL VORBEHANDELTEN TIEREN.

Magen-Durchblutung ml/g x min ^{125}J- bzw. ^{51}Cr.

Kontrolltiere			oral vorbehandelte Tiere	
$\bar{x}$	$s\bar{x}$		$\bar{x}$	$s\bar{x}$
0,089	±0,041	1. Antrum Gesamtwand	0,196	±0,052
0,188	±0,118	2. Antrum Mucosa	0,221	±0,089
0,060	±0,024	3. Antrum Muscularis	0,073	±0,013
0,183	±0,132	4. Fundus-Corpus Gesamtwand	0,407	±0,142
0,765	±0,465	5. Fundus-Corpus Mucosa	0,712	±0,195
0,129	±0,081	6. Fundus-Corpus Muscularis	0,031	±0,009

ABB.10 DURCHBLUTUNGSUNTERSCHIEDE IM MAGEN-DARMTRAKT

V. STATISTIK

In dieser Arbeit wurde der Mann-Whitney-Wilkoxen-Test für gepaarte Meßwerte verwendet. Dieser Test gilt als verteilungsfreies Analog zum t-Test für gepaarte Meßwerte.

Zunächst wurde festgestellt, mit Kontrollgruppenwerten einerseits und den Werten von oral vorbehandelten Tieren anderseits, wie die Differenzen gebildet werden sollen. Danach wurden die Absolutwerte der Differenzen in Ränge transformiert. Schließlich wurden die Ränge der Differenzen mit den seltenen Vorzeichen addiert. Die Summe ist dann die Prüfgroße.

Alle Voraussetzungen für den Test wurden erfüllt. Die Summe der Paare jeweils größer als 6.

Der Test zeigt im Falle der Blutdruckbestimmung nach 2 Stunden und Blutdruckänderungen nach 30 Minuten, daß die Abweichung der Differenzsumme von Null „bedeutsam" bei allen Fällen ist. Weiterhin wurde die Mortalitätsrate durch den Fischertest geprüft, wobei sich herausstellte, daß p 0,005 ist.

Die Organdurchblutungswerte und die J^{125}-Verteilungswerte wurden mittels Mittelwerten, Standardabweichung und mittlerem Fehler des Mittelwertes dargestellt.

Prüfung auf signifikante Unterschiede mittels des Mann-Whitney-Wilkoxentest für gepaarte Meßwerte

Vergleich der Blutdruckwerte nach 30 Minuten

Gruppe 1: Kontrolltiere
Gruppe 2: Oralvorbehandelte Tiere

Anzahl der Werte in Gruppe 1: 12

GRUPPE 1*

0	0	115	100
0	100	50	90
90	120	0	0

* Werte in mm Hg angegeben.

Anzahl der Werte in Gruppe 2: 11

GRUPPE 2

100	100	80	65
130	100	80	110
100	90	100	—

Fallzahlen: N:11 N:12
Rangsummen: R1:117 R2:159
U-Wert: 39

Vergleich der Blutdruckwerte nach 2 Stunden

Gruppe 1 : Kontrolltiere
Gruppe 2 : Oralvorbehandelte-Tiere

Anzahl der Werte in Gruppe 1 : 11

GRUPPE 1*

0	35	100	80
0	80	50	70
30	30	40	—

* Werte in mm Hg angegeben.

Anzahl der Werte in Gruppe 2:11

GRUPPE 2*

45	55	40	35
80	30	70	50
100	65	40	—

Fallzahlen: N:11 M:11
Rangsummen: R1:115 R2:135
U-Wert: 49

Die Blutdruckwerte von Kontroll-und oral vorbehandelten Tieren wurden nach 30 Minuten und 2 Stunden miteinander verglichen, die Ergebnisse sind in Abb. 8 dargestellt. Es zeigt sich, daß nach 30 Minuten sowohl, als auch nach 2 Stunden signifikante Unterschiede in den Blutdruckwerten zwischen Kontrolltieren und oral vorbehandelten Tiere bestehen.

IV. DISKUSSION

Es gibt eine alte Erfahrung, daß Menschen, die eine Infektionskrankheit überwunden haben, wie z.B. virale Kinderkrankheiten oder wie seiner Zeit die Pest, nur selten im Laufe ihres Lebens diese Krankheit noch einmal bekommen. In dieser Erkenntnis wurzelt der Ursprung der Immunologie. Im Jahre 1730 schrieb Voltaire über den seit dem 15. Jahrhundert von den Chinesen geübten Brauch, den getrockneten und pulverisierten Schorf von Pocken durch die Nase zu schnupfen, um so prophylaktisch eine Pockeninfektion künstlich herbeizuführen (23).

Die moderne Immunologie begann jedoch erst im Jahre 1897, als Paul Ehrlich eine allgemeine Theorie der Immunität beschrieb, die viele grundlegende Arbeiten über den Mechanismus der Antikörperproduktion anregte und beeinflußte (34).

Dann schlug Bordet im Jahre 1903 eine Vorstellung von der Antigen-Antikörperbindung vor (8).

Lokale Reaktionen auf die wiederholte Injektion von Substanzen, die bei ihrer ersten Verabreichung völlig harmlos waren, wurden erstmals von Arthus im Jahre 1903 beschrieben (8, 23).

Anaphylaktische Reaktionen und Bemühungen zur Aufklärung ihres Mechanismus beanspruchten vor dem Ersten Weltkrieg viel Interesse, und sie zogen Erklärungen nach sich, die im Grunde mit manchen der gegenwärtig im Brennpunkt der Aufmerksamkeit stehenden eine ausgeprägte Ähnlichkeit haben. Die Frage nach der Substanz, die für eine

Anaphylaxie verantwortlich gemacht werden kann, schien schließlich geklärt, als Dale im Jahre 1910 (8, 23) die pharmakologischen Eigenschaften des Histamins entdeckte und zeigte, daß sich mit Histamininjektionen viele, wenn auch nicht alle Erscheinungen der Anaphylaxie nachahmen ließen.

Darüberhinaus hat der ukrainische Wissenschaftler Ilja Metschnikoff schon 1875 feststellen können, daß die Phagozytose von Leukozyten durchgeführt wird und daß das ein wesentlicher Vorgang der Immunität ist (74).

Antigen-Antikörpersysteme konnten genauer studiert werden, nachdem Elek, Oudin und Ouchterlony im Jahre 1946 die Agargeltechnik vorgestellt haben (23), und die seither ausgearbeiteten Techniken besitzen ein hohes Auflösungsvermögen in der Sichtbarmachung von Antigengemischen.

In den 40 und 50-er Jahren wurde viel auf den Gebieten Anaphylaxie und Immunität gearbeitet, obwohl noch vieles im Dunklen lag, wie z.B. die Strukturen der Immunglobuline. Einer dieser Forscher in den 50-er Jahren war Brambell, der sich mit der Frage der passiven Immunität beschäftigte (15), und der feststellte, daß der Transport mütterlicher Immunglobuline im Säugetier auf die Neugeborenen vor der Geburt, bzw. nach der Geburt oder auch zu beiden Zeiten stattfinden kann (15, 19, 68, 72). Das Wirkungsprinzip wurde von Brambell als „Rezetor Hypothese" formuliert. Es wurde postuliert, daß Eiweißmoleküle selektiv in die Mukosaepithelzellen durch Pinozytose aufgenommen werden. Eiweiß, das in dieser Weise resorbiert wird, heftet sich an Rezeptoren von Mukosazellengebildeten Vesikeln an (16, 17, 59). Diese Rezeptor-

Eiweißbindung schützt das Eiweiß vor lysosomaler Degradierung (18, 64).

Nachdem von Porter und Edelman (1959), die Strukturen von Immunglobulinen sequenziert und beschrieben worden waren, und besonders nach der Feststellung, daß der Fc Teil dieser Moleküle eine unentbehrliche Rolle für die Resorption der Antikörper aus dem Magen-Darmtrakt spielt (Brambell & Morris) (18), konnte die „Rezeptor Hypothese" weiter verbessert werden. Morris und Morris haben dann beobachtet, daß die transintestinale Passage von Immunglobulinen am ausgeprägtesten in den proximalen Teilen des Gastrointestinaltraktes stattfindet (18, 65).

Einerseits besteht die Beobachtung, daß enteral-verabreichte Antigene zu einer Toleranz bzw. Immunität gegen bestimmte Erreger bzw. deren Toxine führen wie z.B. nach oraler Applikation von Choleraenterotoxin (Agarwall) (1). Von lebenden Polioviren (Sabin) (80), oder mit abgetöteten Typhusbakterien (Jandl) (45) ist es denkbar, daß eine Blockierung von zirkulierenden Antikörpern durch enteral zugeführtes Antigen oder auch dessen Degradierungsprodukte im Sinne einer Haptenhemmung stattfindet (85, 86).

Das Darmepithel spielt dabei eine doppelte Rolle. Erstens ist es spezialisiert auf aktive und passive Resorption von Nährstoffen, und zweitens ist es eine physikalische Barriere, die den Inhalt des Magen-Darmtraktes von den anderen Organen trennt (90). Diese Barriere ist jedoch unvollständig, da verschieden große Moleküle und Partikel, die meist von Nährstoffen und Darmflora herstammen, das intestinale

Epithel durchdringen können (96, 97). Obwohl es wahrscheinlich keine große Bedeutung für die Ernährung hat, spielt die Resorption von großmolekularen Proteinen durch das Epithel eine übergeordnete Rolle in Rahmen der Magen-Darmimmunität (8).

Nach einem oralen Challenge eines immunisierten Menschen ist die Resorption des Antigens durch das Epithel sowohl für die Induktion der Immunität gegen ein oral eingenommenes (31, 49, 62) als auch für die Auslösung von Immunreaktionen oder einer Hypersensibilisierung ein sehr wichtiger Faktor (11, 20). Es gibt zwei Wege, auf denen die immunogenen Moleküle durch die Barriere gelangen können: das Epithel, das auf den Peyerschen Plaques liegt und das Epithel der Mukosazellen auf den Villi (71, 87).

Eine orale Immunisierung erzeugt nicht nur Mucosa-Antikörper, sondern kann zudem ein Toleranzstadium hervorrufen, was auf den gesamten Organismus ausgedehnt sein kann (92). Unter dieser Voraussetzung ist es möglich, ein Antigen parenteral zu verabreichen, ohne eine immunologische Reaktion (60, 67, 81).

Folgende bekannte Faktoren können dazu beitragen, eine Toleranz über den Magen-Darmtrakt zu induzieren:

— Anwesenheit von Supressor-T-zellen in Peyerschen Plaques (6, 71).

— Die Funktion der Leber als Filter (91) für Antigene.

— Die blockierende Wirkung des Antigens zusammen mit Antikörper der Gruppe Ig A (4) und

— Der Effekt von kleinen Mengen absorbierten Antigens, das ein Stadium der „low zone tolerance" verursacht (63).

Aufgrund dieser Toleranzinduktion durch orale Applikation eines Antigens können theoretische und praktische Einwände erhoben werden, daß die enterale Verabreichung von z.B. Bakterienantigenen zu einer schützenden Immunität führt. Vor allem, ist das deswegen ein wichtiger Einwand, weil die enterale Immunisierung sich als nützlich in der Human- und Tiermedizin erwiesen hat. Es ist jedoch möglich durch enterale Gabe eines Antigens einerseits eine Toleranz zu induzieren, andererseits aber auch zu immunisieren d.h. das eine schließt das andere nicht aus. Abhängig ist die Reaktion einmal von der Dosis, aber auch von der Art der Antigenpräsentation (82, 83, 84, 85).

Der zweite Weg der Antigen Resorption erfolgt durch das Epithel der Mukosazellen des proximalen Endes des Darmes (R.E. Jones) (47). Das ist der Weg, auf welchem, passive Immunität von der Mutter an den Säugling bei vielen Tierarten in Form der Immunglobuline des Colostrums und der Milch weitergegeben wird (Brambell) (19, 72). Bei Ruminanten ist der selektive Transport von homologen Immunglobulinen nach dem zweiten oder dritten Lebenstag und bei Nagetieren nach der zweiten bis dritten Lebenswoche nicht mehr in dem Umfang nachweisbar wie vorher (17, 58, 72). Sowohl bei diesen Tieren, als auch bei Säugetieren, welche diesen Weg für passive Immunität nicht benutzen, gibt es eine transmukosale Resorption von Makromolekülen, die während der ganzen Lebensdauer stattfindet (54, 55, 56). Viele Partikel

dringen nach Pinozytose an der Oberfläche der Mukosa durch die Zellen und werden als Vesikel bis zum lateralen Rand transportiert.

Niemand bezweifelt heutzutage, daß großmolekulare Partikel auf diesem Weg resorbiert werden. Über die Menge ist man sich jedoch nicht ganz einig. Die meisten Experimente wurden an Ratten und Mäusen durchgeführt. Nach Fütterung oder intraduodenaler Injektion von markierten Proteinen (in Mengen von 20-200 mg) berichten Thomas und Parrott, Serumantigen-Konzentrationen bis zu 10 ng. pro ml. gefunden zu haben (d.h. 0,001% der gegebenen Dosis) (92). Ähnliche Experimente mit Mäusen haben ein etwas breiteres Spektrum von Werten gezeigt bis 1 µg/ml (89). Andre et al. berichten, daß sie mehr als 400 µg/ml gefunden haben (3).

Walker et al. (97, 98, 99) haben mittels Rattenexperimenten festgestellt, daß bis zu 2% einer markierten Albumindosis resorbiert wurde. Davon wurden mehr als die Hälfte in der Vena portae nachgewiesen, der Rest in der mesenterialen Lymphe. Diese Forscher sind der Meinung, daß bei der höchsten verwendeten Konzentration (500 ng/Kg Körpergewicht) in ihren Experimenten doch nur einige Milligramm Protein resorbiert wurden (102).

Neuerdings hat Seifert dieser Debatte eine neue Dimmension gegeben. Er berichtet (83), daß der Anteil an intakten großmolekularen Fremdproteinen nach der Darmpassage in Serum von Ratten und Hunden zwischen 5 und 10% beträgt.

Hemmings ist der Meinung, daß zwischen 12% und 46% des

eingenommenen Stoffes im Gewebe als Protein-gebundener Stoff zu finden ist (43). Ganz allgemein kann gesagt werden, daß ein großer Teil eines resorbierten, radioaktiv markierten Proteins in Form des ursprünglichen Proteins nachgewiesen werden kann, und nicht in Form der Bruchstücke. Bei Kaninchen soll dieser großmolekulare Anteil circa 20% der ursprünglichen Dosis betragen. Bei immunisierten Tieren werden nach den Untersuchungen von Andre et al. (2, 4) und Walker und Isselbacher (99, 100) weniger großmolekular resorbiert als bei toleranten oder nicht immunisierten Tieren.

Darüberhinaus wurde von Seifert gezeigt (82, 83, 84, 85, 86), daß noch nach der Darmwandpassage eine biologische Wirksamkeit der Fremdproteine vorhanden ist. Seifert postuliert, daß aus der Resorption großmolekularer Proteine durch die Darmwand sich weniger ernährungsphysiologische aber umsomehr immunologische Konsequenzen ergeben.

Es ergibt sich daraus die Frage: kann die Immunitätslage über den Magen-Darmtrakt experimentell manipuliert und kontrolliert werden. Wenn ja, könnte man sie für therapeutische oder prophylaktische Zwecke nutzbar machen.

Obwohl großmolekulare Proteine den Gastrointestinaltrakt passieren und in das Kreislaufsystem eintreten können, bewirken sie in der Regel, keinerlei bemerkenswerte pathophysiologische Veränderungen. Deshalb war es angebracht zu untersuchen, ob dieses Phänomen als eine wirksame Prophylaxe bei sensibilisierten Tieren herangezogen werden kann, um sie zumindest vorübergehend in einen Zustand der Toleranz zu bringen. Die Mortalitätsrate

nach i.v. Antigenexposition bei oral mit HGG vorbehandelten, sensibilisierten Tieren beträgt 0% ($p < 0.05$) und unterscheidet sich signifikant von der 42% Mortalitätsrate bei den Kontrolltieren. Dies zeigt, daß die Vorbehandlung von sensibilisierten Tieren mit einer enteralen Dosis von 1 g Antigen dem Auftreten eines mit dem Tod endenden anaphylaktoiden Schocks entgegenwirken kann. Ob die Blockade der schweren Kreislaufreaktion dabei durch resorbierte Antigenfragmente oder durch das gesamte Antigen ausgelöst worden ist, muß dahingestellt bleiben. Wie bei allen Schockformen so ist auch beim anaphylaktoiden Schock der Blutdruck ein wichtiger Parameter (13). In ursächlichem Zusammenhang mit der Kreislaufreaktion steht der starke Blutdruckabfall bei den Kontrolltieren.

Versucht man das in Abb. 7 dargestellte Blutdruckverhalten zu interpretieren, so kommen die Kontrolltiere durch die i.v. Antigenexposition in einen schockähnlichen Zustand, von dem sie sich innerhalb der Beobachtungszeit nicht erholen. Ausgelöst werden kann dieser Schock entweder durch Antigen-Antikörperkomplexe und Aktivierung des Komplementsystems (39,66), welche in eine Freisetzung der Anaphylotoxine C3a und C5a resultieren (Brown & Cochrane) (12, 21, 25, 77), oder durch einen IgG4 Antikörper, der in der Lage ist ein „bridging" auf den Mastzellen oder Basophilen auszulösen. Folgeversuchen ist es vorbehalten, Veränderungen im Komplementsystem bzw. auch die Freisetzung von Mediatorsubstanzen zu bestimmen. Bei den oral vorbehandelten Tieren fällt der Blutdruck nicht so stark ab. Mit

einem durchschnittlichen Tiefstwert von 57,5 ± 6,7 mm Hg bleiben sie über einer sog. „Schockgrenze". Dazu kommt, daß sie sich innerhalb von wenigen Minuten von ihrem schlechten Zustand erholen. In der Zeit von 2,2 Minuten ist der Blutdruck nahezu wieder auf Ausgangswerte angestiegen. Möglicherweise kommt es bei der oralen Vorbehandlung zur Bildung eines Antigen-Antikörperkomplexes noch im Magen-Darmtrakt. Dadurch würde eine Antikörperverminderung im übrigen Kreislauf entstehen, was bei den oral vorbehandelten Tieren zu einer verminderten Antigen-Antikörperkomplexreaktion führen würde (27). Weiteren Aufschluß über die Ursache der verzögerten Reaktion könnten eventuell durch die Messung und Verteilung der Antigen-Antikörperkomplexe, der Komplementfaktoren bzw. der freigesetzten vasoaktiven Stoffe gewonnen werden, was jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht vorgesehen war.

Es ist beobachtet worden, daß sich bei Kaninchen im Rahmen einer experimentellen Serumkrankheit eine nekrotisierende Arteriitis ausbilden kann (7). Somit kann die in Abb. 4, dargestellte Minderdurchblutung einmal durch den Blutdruckabfall, dann aber auch durch eine entzündliche Reaktion im Endstromgebiet bedingt sein (33, 50, 51, 75).

Die Ergebnisse zeigen in allen Organen eine einheitliche Tendenz: durch die orale Vorbehandlung mit HGG scheint in allen Organen eine bessere Durchblutung gewährleistet zu sein. Das bedeutet, daß möglicherweise durch die Vorbehandlung die Menge der zirkulierenden Antikörper verringert wird (38, 40, 41). Dadurch werden nach parenteraler Antigenex-

position weniger oder möglicherweise gar keine Antigen-Antikörperkomplexe gebildet. Die Folge wäre, daß auch weniger vasoaktive Stoffe freigesetzt werden würde. Damit würde auch die Gefäßpermeabilität, aber auch das Herzzeitvolumen in einem geringeren Maß beeinflußt werden.

Antigen-Antikörperkomplexe werden normalerweise schnell aus der Zirkulation entfernt und im Retikuloendothelialsystem abgebaut, wobei das Tempo dieses Vorgangs von Eigenschaften der Komplexe abhängt (44, 46, 49, 78). Komplexe, welche bei großem Antigenüberschuß gebildet werden, sind ziemlich klein und werden relativ langsam entfernt, während die bei Antikörperüberschuß gebildeten Komplexe viel größer sind und sehr schnell entfernt werden (Dixon et al.) (30). Wenn man jetzt den Verbleib des i.v. applizierten Antigens bei sensibilisierten Tieren und deren Verteilung in Abb. 6 betrachtet, dann sieht es so aus, daß bei den oral vorbehandelten Tieren die Organe des Retikuloendothelialsystems stärker beansprucht werden als bei den Kontrolltieren. Einige interessante Beobachtungen weisen daraufhin, daß die Leber eine Eigenschaft besitzt, Immunogene zu eliminieren (24, 69, 104). Chase schlug schon im Jahre 1946 vor (26), daß Haptene wie z.B. Dinitrochlorbenzol oder Pichrylchlorid, wenn sie Kaninchen oral verabreicht und vermutlich über die Vena portae transportiert werden, die Entwicklung einer „delayed type" Hypersensitivität hemmen konnten. In der Literatur wird heute bestätigt, daß diese Reaktion zu erwarten ist (64, 104). Neuerlich, zeigten Cantor und Dumont (24), daß bei einer Hundefütterung mit DNCB

deren Fähigkeit, zirkulierende Anti-DNCB-Antikörper zu bilden, gehemmt wurde, wenn dasselbe nachträglich subkutan injiziert worden war. Wenn der Zutritt dieser Haptene zur Leber mittels eines portocavalen Shunts, noch vor der DNCB Fütterung umgegangen wurde, dann blieb die Fähigkeit Antikörper zu bilden unberührt.

Indirekte Beweise, daß dieses Phänomen auch beim Menschen stattfinden kann, sind die Beobachtung leberkranker Patienten, bei welchen spontane portosystemische Shunts wegen Leberschaden zustande kommen könnten (91, 93). Sie zeigten oft einen erhöhten Antikörpertiter gegen eine Mehrzahl von Bakterien und anderen Antigenen, die durch den Magen-Darmtrakt in die Blutbahn gelangt sind. Ein ähnlich erhöhter Antikörpertiter wurde nach einem portocavalen Shunt berichtet (94). Daß diese Beobachtungen nicht auf die Wirkung einer Denaturierung der verschiedenen oral aufgenommenen Antigene durch die Magensäuren oder durch die Verdauungsenzyme zurückzuführen sind, ist von Battisto und Miller geprüft worden. Die Autoren konnten zeigen (10), daß eine Injektion des Hapten-Proteinkonjugates direkt in die Vena portae eine immunologische Paralyse verursachte, während eine Gabe von dem selben Antigen aber durch eine andere Eintrittspforte sich als hoch immunogen herausgestellt hat. Ergänzende Beweise, daß die Leber für die Immunantwort eine große Rolle spielt, wurden von Triger et al. gezeigt (91, 95). Antigene, die in die Vena portae injiziert wurden, zeigten eine niedrigere Antikörperantwort als durch eine Injektion in die Vena cava inferior. Das bedeutet, daß

durch die enterale Gabe eines Antigens aber auch eines Antigenbruchstückes eine immunologische Paralyse induziert werden kann. Möglicherweise ist auch in den vorliegenden Experimenten am Kaninchen auf diese Art eine Paralyse komplett bzw. auch inkomplett erzeugt worden.

Wenn man nun die Verteilung des radioaktiven Antigens im Magen-Darmtrakt, wie in Abb. 5 dargestellt, betrachtet, so liegt die Radioaktivität der Gewebestücke der Kontrolltiere in den meisten Fällen, wie z.B. im Magen-Darmtrakt, höher als bei den oral vorbehandelten. Es ist denkbar, daß diese Ansammlung der Radioaktivität im Magen-Darmtrakt ihre Ursache in einer Ablagerung der Antigen-Antikörperkomplexe im Kapillargebiet hat (52). Dafür würden auch die vorher gezeigten Durchblutungswerte sprechen, die nämlich bei den Kontrolltieren in diesen Gebieten vermindert waren. Das bedeutet, daß Antigen-Antikörperkomplexe im Magen-Darmtrakt die Mikrozirkulation vermindern, d.h., daß bestimmte Bereiche einfach verlegt bzw. sekundär durch eine Entzündung der Gefäßwand von der Zirkulation ausgeschlossen werden.

Eine Möglichkeit festzustellen, ob sich eventuell Antigen-Antikörperkomplexe im Organismus bilden, ist damit gegeben, die Antikörper in der Zirkulation zu bestimmen. Wenn diese z. B. während der Fütterung abnehmen, kann daraus geschlossen werden, daß durch die Resorption von Antigen-Immunkomplexe gebildet werden. Mit einem Radioimmunassay wurden die Antikörperspiegel über die Beobachtungszeit bestimmt. Obwohl auch bei den Kontrolltieren der Anti-

körpergehalt geringfügig über die Beobachtungszeit abfällt, sieht man bei den oral vorbehandelten Tieren einen bedeutend größeren und rascheren Abfall, besonders unmittelbar nach der Fütterung.

Nach den Untersuchungen von Andre und Hereman (4), kann man durch orale Applikation eines Antigens sowohl eine lokale, wie auch eine systemische Immunisierung erreichen. Dieses ist, wie früher Untersuchungen von Paul Ehrlich (34) oder Calmette (1) gezeigt haben, auch mit Mikroorganismen möglich.

Die vorliegende Frage bezog sich jedoch nicht auf eine aktive oder passive Immunisierung, sondern viel mehr auf eine Toleranzinduktion bei vorhandener Sensibilisierung gegen ein bestimmtes Antigen. Von Thomas und Parrott (92) konnte gezeigt werden, daß eine Toleranzinduktion gegen ein bestimmtes Protein-Antigen (BSA) erfolgreich erzeugt werden kann. Aus der Allergologie ist bekannt, daß man gegen Heuschnupfen sowohl subkutan als auch, wie Laetsch und Wütrich (53) zeigen konnten, oral desensibilisieren kann (62, 73, 105). Wie auch immer der Begriff Desensibilisierung aufzufassen ist, Tatsache bleibt jedoch, daß allergische Patienten durch die orale Antigenbehandlung in einen Zustand der Verträglichkeit oder Reaktionslosigkeit gebracht worden sind. Eine ähnlich Beobachtung liegt im Falle der gezeigten Experimente vor. Sehr stark sensibilisierte Kaninchen konnten durch die orale Applikation des Proteinantigens in den Zustand einer abgeschwächten Reaktion nach i.v. Antigenexposition gebracht werden. Die Frage, warum die

Kreislaufreaktion nur abgeschwächt und nicht total verschwunden war, kann vielleicht damit erklärt werden, daß zum einen die Dosis noch nicht optimal gewählt und zum anderen der Zeitpunkt der Antigenexposition nach Resorption nicht exakt war. Es könnte also sein, daß bei einigen Tieren ein Antikörperüberschuß bestand und dabei die Komplexe schnell entfernt wurden, während bei anderen ein Antigenüberschuß bestanden hat, wobei die Komplexe kleiner und langsamer aus dem Kreislauf entfernt wurden. Daraus resultiert genügend Zeit, um eine größere Reaktion zu verursachen. Was jedoch vielversprechend erscheint, ist, daß nicht nur die Kreislaufreaktion abgeschwächt war, sondern auch der Antikörpertiter durch die orale Applikation des Antigens vermindert werden konnte. Die vorher gezeigten Radioimmunoassaykurven setzten sich aus Mittelwerten zusammen. Versucht man in einer Einzelanalyse die Kreislaufveränderungen mit den immunologischen Veränderungen zu korrelieren, so ergibt sich Folgendes: je stärker der Antikörpertiterabfall durch orale Vorbehandlung ist, desto geringer ist die Kreislaufreaktion nach parenteraler Antigenexposition. Da diese Zusammenhänge noch zu wenig abgesichert und dazu noch eine Vielzahl von weiteren Untersuchungen notwendig sind, wurde darauf verzichtet, die feineren Mechanismen zu analysieren. Es besteht aber die Hoffnung, mit Hilfe des Radioimmunassays einen Grenzwert für zirkulierende Antikörper zu bestimmen, der eine Kreislaufreaktion ausschließt oder wahrscheinlich macht.

Es würde für den Organismus ein ganz klarer biologischer

Vorteil sein, wenn er ein unvermeidliches Durchsickern von kleinen Mengen normaler Nahrungsproteine in das Kreislaufsystem tolerieren würde. Gleichzeitig aber müßte er eine „lokale" positive Antwort beibehalten können, zur Abwehr gegen eingedrungene pathogene Substanzen.

Welche Resorptions-oder Verdauungsmechanismen hinter dem beobachteten Phänomen auch immer stehen, eine Tatsache scheint durch die vorgelegten Ergebnisse und die in der Literatur geschilderten Beobachtungen gesichert zu sein: Über den Magen-Darmtrakt läßt sich die Immunitätslage manipulieren und sie wird höchstwahrscheinlich im Normalfall durch die Nahrungsaufnahme permanent reguliert.

ZUSAMMENFASSUNG

In den vorliegenden Versuchen sollte folgende Fragestellung gelöst werden: Kann eine Kreislaufreaktion die durch eine Antigen-Antikörperreaktion verursacht ist durch enteral verabreichtes Antigen beeinflußt werden?

Die Versuche wurden an Kaninchen durchgeführt. Als Antigen wurde humanes Gammaglobulin verwendet.

Vor Beginn einer intravenösen Antigenexposition erhielten die mit HGG immunisierte Kaninchen jeweils 1g HGG enteral verabreicht. Nach vier Stunden Resorptionszeit wurde in Narkose bei jedem Tier die Arteria carotis kanuliert um kontinuierliche Blutdruckmessungen durchführen zu können. Nach erfolgreicher Preparation wurde bei allen Tieren eine i.v. Anigenexposition mit 50mg HGG durchgeführt. Darüberhinaus wurden Durchblutungsmessungen durchgeführt, wobei die Tiere 0,1ml radioaktiv markierten Partikel in 0,9% NaCl gelöst intrakardial appliziert bekamen. Mit dieser Methode wurden in Milz, Leber, Lunge, Muskel, Darm und Niere die Durchblutung bestimmt. Weiterhin wurde in diesen Organen die Verteilung des radioaktiv markierte Antigens gemessen.

42% der Kontrolltiere starben nach i.v. Antigenexposition während alle oral vorbehandelte Tiere über einen Beobachtungszeit von 90 Minuten überlebten.

Der Blutdruck von sensibilisierten Kontrolltieren fällt unmittelbar nach der parenteralen Applikation des Immunogens von duchschnittlich 110 mmHg auf 45 mmHg ab, und steigt auf 65 mmHg innerhalb der darauffolgenden 30 Minuten an. Bei den mit dem Antigen oral vorbehandelten Tieren, fällt der Blutdruck von durchschnittlich 110 mmHg auf nur 60 mmHg ab und steigt innerhalb von 30 Minuten auf durchschnittlich Ausgangswerte an.

Der vor und nach der i.v. HGG-Gabe bestimmte Antikörpergehalt vermindert sich im zirkulierenden Blut der Kontrolltieren durch die i.v. Gabe von HGG nicht signifikant. Die orale vorbehandlung führt auf der anderen Seite zu einer eindrucksvolleren Abnahme des Antikörpergehaltes gegen HGG. Der Antikörperabfall ist also höchstwahrscheinlich für die Abschwächung der Kreislaufreaktion nach i.v. Antigenexposition mit HGG verantwortlich.

Durch Resorption des Antigens über den Magen-Darmtrakt kann somit nicht nur eine anaphylaktoide Kreislaufreaktion durch enterale Applikation des Antigens vermindert werden, sondern auch die Menge der zirkulierende Antikörper.

VII LITERATURVERZEICHNIS

1. AGARWALL, S.C., GANGULY, N.K.: Oral Immunization with L-Forms of Vibrio cholarae in human volunteers. INFECT. IMMUN. 6 (1972), 17.

2. ANDRE, C., ANDRE, F,. DRUGUET, M., FARGIER, M.C.: Response of anamnestic Ig-A producing cells in the mouse gut after repeated intragastric immunization. ADV. EXP. MED. BIOL. 107 (583-91) 1978.

3. ANDRE, C., LAMBERT, R., BAZIN, H., HEREMANS, J.F. Interferance of oral immunization with the intestinal absorbtion of heterologous albumin. EUR. J. IMM. 4, 701 (1974).

4. ANDRE, C., VAERMAN, J.F., CAMBASIO, C.L.: HEREMANS, J.F. A mechanism for the induction of immunological tolerance by antigenfeeding: Antigen-antibody complexes. J. EXP. MED. 142, 1509 (1975).

5. ARCHIBALD, L.H., MOODY, F., SIMONS, M.: Measurement of gastric bloodflow with radioaktive microspheres. J. APPL. PHYSIOL. 38, 1051 (1975).

6. ASHERSON, G.I., ZEMBALA, M., PERERA, ET AL.: Supressor cells in lymph nodes and spleen after immunization with contact sensitizing agent picryl chloride. W.R. CELL. IMM. 33, 145 (1977).

7. AUSTEN, F.J., BLOCH, K.J.: Biochemistry of acut allergic reactions. BLACKWELL, OXFORD PRESS, 1968

8. AVERZ, O.T.: Biographical memoirs of Fellows of the Royal Society. OXFORD UNIVERSITY PRESS, LONDON, VOL. 2, (1956).

9. BARTRUM, R.J. JR., BERWITZ, D.M., HOLLENBERG, N.K.: A simple radioactive microsphere method for measuring regional bloodflow and cardiac output. INVEST. RADIOL. 9, 126 (1974).

10. BATTISTO, J.R., MILLER, J.: Immunological unresponsiveness produced in adult guinea pigs by parenteral introduction of minute quantities of hapten or protein antigen. PROC. SOC. EXP. BIOL. 111, 111 (1962).

11. BAZIN, H.: Secretory immunglobulins and local immunity. CAPRON, A., ET AL., ED. IMMUNITY IN PARASITIC DISEASE. PARIS, INSERM. 1978.

12. BLOCH, K.: The anaphylactic antibodies of mammals including man. PROG. ALLERGY 10, 84, 1967.

13. BODHAMMER, G. UND VOGT, W.: Shock phenomenon in animals. INT. ARCH. ALLERGY APPL. IMMUNOLOGY 32, 417, (1967).

14. BRAYLEY, J.F., DAWSON, C.A., MOORE, V.L.: Immunologic block against antigen absorption from isolated perfused rabbit lungs. J.of IMMUN. 121, 926 1980.

15. BRAMBELL, F.W.R.: The passive immunity of the young mammal. BIOL. REV. 33, 488 (1958).

16. BRAMBELL, F.W.R., HEMMINGS, W.A., OAKLEY, C.L., and PORTER, R.R.: The relative transmission of the fractions of papain hydrolysed homologous gamma-globulin from the uterine cavity to the fetal circulation in the rabbit. PROC. ROY. SOC. B, 151, 487 (1960).

17. BRAMBELL, F.W.R.: Resemblances between passive anaphylactic sensitization and transmission of passive immunity. NATURE, 199, 1164 (1963).

18. BRAMBELL, F.W.R., HEMMINGS, W.A., MORRIS, I.G.: A theoretical model of Gamma-globulin catabolism. NATURE, 203, 1352 (1964).

19. BRAMBELL, F.W.R.: The transmission of passive immunity from mother to young. NORTH HOLLAND PUBL. CO., AMSTERDAM, 1970.

20. BRENDEL, W., LAND, W. HOPF, U., SEIFERT, J.: Induction of tolerance in man to horse IgG. LANCET II, 1141 (1969).

21. BROWN, D.L.: Biological activities of complement in: The immune system. A course on the molecular and cellular basis of immunity. - BLACKELL, MELBOURNE, 274 (1975).

22. BUCKBERG, G.D., LUCK, J.C. ET AL.: Some sources of error in measuring regional bloodflow with radioactive microspheres. J. APPL. PHYSIOL. 31, (4), 598 (1971).

23. BULLOCH, W.: The history of bacteriology. OXFORD UNIV. PRESS, LONDON, 1938.

24. CANTOR, H.M., DUMONT, A.E.: Hepatic supression of sensitisation to antigen absorbed into the portal system. NATURE, 215, 744 (1967).

25. CORCHRANE, C.G., KOFFLER, D.: Immune complex disease in experimental animals and man. Dixon and Kunkel: Advances in immunology ACADEMIC PRESS, N.Y. 185-263 (1973).

26. CHASE, M.W.: Inhibition of experimental drug allergy by prior feeding of the sensitizing agent. PROC. SOC. EXP. BIOL. AND MED. 61, 257 (1946).

27. DAVID, M.F.: Prevention of homocytotropic antibody formation and anaphylactic sensitisation by prefeeding antigen. J. ALLERGY CLIN. IMMUN. 60, (3) 180-7 (1977).

28. DELANEY, J.P., GRIM, E.: Canine gastric bloodflow in its distribution. AMER. J. PHYSIOL. 207, 6, (1964).

29. DE WECK, A.L., GIRARD, J.P.: Specific inhibition of allergic reactions to penicillin in man by monovalent hapten II. Clinical studies INTERN. ARCH. ALLERGY APPL. IMMUNOL. 42, 798 (1972).

30. DIXON, F.J., TALMADGE UND MAURER,: Schicksal injizierter Antigene. J. IMMUNOL. 68, 693 (1952).

31. DOLEZEL, J., BIENENSTOCK, J.: Immune response of the hamster to oral and parenteral immunization. CELL. IMMUNOL. 2, 326 (1971).

32. DOMENECH, R.J. ET AL.: Total and regional coronary blood-flow measured by RA microspheres in conscious and anesthetized dogs. CIRC. RES. 25, 581 (1969).

33. DUPREE, E., GOLDMAN, A.S., GRANT, J.A.: The release of histamine from basophilic leucocytes in plasma. J. ALLERGY CLIN. IMMUNOL. 53, 75 (1974).

34. EHRLICH, P.: On immunity with special referance to cell life. PROC. ROY. SOC., LONDON 66, 424 (1900).

35. EMMERLING, P. AND FINGER,H.: Antikörper induzierte Immunsuppression nach minimaler Antigenstimulierung Z. IMMUN. FORSCH. 145, 95 (1973).

36. FORSYTH, R.P.: Hypothalamic control of the distribution of cardiac output in the unanesthetized rhesus monkey. CIRC. RES. 26, 783 (1970).

37. FRANKS, J.J., TAKEDA,V., AND REEVE, E.B.: Preparation of autologous I-131-albumin for metabolic studies in man. J. LAB. CLIN. MED. 60, 619 (1962).

38. GREENBERG, P.D., BLUESTONE, H.G.: Antigen recognition by primed T-lymphocytes in vitro. J. IMMUNOL. 121, (1), 239-44 (1978).

39. GROSSKLAUS, C., DAMERAN, B., AND VOGT, W.: The action of complement. Naunyn-Schmiedbergs ARCH. PHARMACOLOGY, 295, 71 (1976).

40. HAIMOVICH, J., SCHECHTER, SELA, M.: Antigenic determinants. EUROP. J. BIOCHEM. 7, 537 (1969).

41. HANSON, D.G., VAZ, N.M., HORNROOK, M.M., LYNCH, J.M., AND ROY, C.A.: Inhibition of specific immune responses by feeding protein antigens. INT. ARCH. ALLERGY APPL. IMM. 55, 562 (1977).

42. HALES, J.R.: Radioactive microsphere techniques for studies of the circulation. CLIN. AND EXP. PHARM. AND PHYS. 1, 31 (1974).

43. HEMMINGS, W.A.,AND WILLIAMS, E.W.: Transport of large breakdown products of dietary protein thru the gut wall: GUT, 19, 715 (1978).

44. HOPF, U.: Immunologische Toleranz. KLIN. WSCHR. 49, 177 (1971).

45. JANDL, G.: Experimentelle Untersuchungen zum Mechanismus der oralen Typhus-immunisierung. Mitteil. Z. HYG. INFEKT. KR. 152, 211 (1966).

46. JOHNSON, H.G., VANHOUT, C.A., WRIGHT, J.B.: Inhibition of allergic reactions by chromoglycate and by a new antiallergic drug U-42, 585E. INT. ARCH. ALLERGY APPL. IMMUN. 56, (6) 81-7 (1978).

47. JONES, R.E.: The selective uptake and transmission of proteins to the circulation from the small intestines of the suckling rat. BIO. ET BIOPHYS. ACTA, 451, 151-160 (1976).

48. KAGNOFF, M.F.: Functional characteristics of Peyer's patch cells: III. Carrier priming of T-cells by antigen feeding. J. EXP. MED. 142, 1425 (1975).

49. KAGNOFF, M.F.: Effects of antigen feeding on intestinal and systemic immune responses: I. Priming of precursor cytotoxic T-cells by antigen feeding. J. IMMUNOL. 120, 395-99 (1978).

50. KAGNOFF, M.F.: II. Supression of delayed type hypersensitivity reactions. J. IMMUNOL. 120, 1509 (1978).

51. KAGNOFF, M.F.: III. Antigen specific serum mediated supression of humoral antibody responses after antigen feeding. CELL. IMMUNOL. 40, 186-203 (1978).

52. KINGHAM, J.G., BAKER, J.H., LOEHRY, C.A.: Autoradiographic study of the permeability characteristics of the small intestine. GUT, 19, 114 (1978).

53. LAETSCH, C., WÜTHRICH, B.: Zur peroralen Desensibilisierung von Inhalationsallergikern im Kindesalter: Behandlungsergebnisse. SCHWEIZ. MED. WSCHR. 103, 342 (1973).

54. LAND, W.: Untersuchung zur Induktion einer Immuntoleranz gegen Pferdegammaglobulin beim erwachsenen Hund. Z. IMMUN. FORSCH. 141, 94 (1970).

55. LAND, W., SEIFERT, J., FATEH-MOGHADAM, A., HOPF, U., UND BRENDEL, W.: Induktion einer Immuntoleranz gegen Pferdeserum IgG beim erwachsenen Hund. Z. GES. EXP. MED. 151, 117 (1969).

56. LEVINE, M.M., ET AL.: Antigenicity of purified glutaraldehyde treated cholera toxoid administered orally. INFECT. IMMUN. 21, 158 (1978).

57. LUNDE, P.K.M., MICHELSEN, K.: Determination of cortical blood flow in rabbit femur by radioactive microspheres. ACTA PHYSIOL. SCAN. 80, 39 (1970).

58. LUSTERMANN, H., GUENTER, H.: Absorption von Kolostrumbestandteilen im Darm, eine Übersicht. ARCH. EXP. VETERINÄRMED. 31, 53 (1977).

59. MAKOWSKI, E.L., MESCHIA, G., ET AL.: Measurement of umbilical arterial blood flow to the sheep placenta and fetus in utero. CIRC. RES. 23, 623, (1968).

60. MATTINGLY, J.A., WAKSMAN, B.H.: Immunologic supression after oral administration of antigen. J. IMMUNOL. 121, 1878 (1978).

61. MESSMER, K., SEEMAN, C., HEDIN, H., RICHTER, UND PETER, K.: Anaphylaktoide Reaktionen nach Dextran. ALLERGOLOGIE 2, 17-24 (1980).

62. MIHALAS, L.S., LOREN, M.L.: Oral challenges in inhalant antigens in asthmatics. ANN. ALLERGY, 42, 145-7 (1979).

63. MITCHISON, N.A.: Induction of immunological paralysis in two zones of dosage. PROC. ROY. SOC. B. 161, 275 (1964).

64. MORRIS, I.G.: Interferance with the uptake of guinea pig agglutinins in mice due to fractions of papain hydrolysed rabbit gamma globulin. PROC. ROY. SOC. B. 157, 160 (1963).

65. MORRIS, B., MORRIS, R.: Quantitative assessment of the transmission of labelled protein by the proximal and distal regions of the small intestine of young rats. J. PHYSIOL. 255, 619 (1976).

66. MÜLLER-EBERHARD, H.J.: Chemistry and reaction mechanisms of complement. ADV. IMMUNOL. 8, 2 (1968).

67. NEWBY, T.J., HUNTLEY, J., EVANS, P.A., BOURNE, F.L.: The immune response of the intestinal tract immune system of the pig to oral antigen. BIOCHEM. SOC. TRANS. 5, 1547 (1977).

68. ONO, K.: Absorption of horseradish peroxidase by the principal cells of the large intestines of postnatal rats. ANAT. EMBRYOL. 151, 53-62 (1977).

69. OSLER, A.G., LICHTENSTEIN, L.M., LEVY, D.A.: In vitro studies of human reagenic allergy. ADV. IMMUNOL. 8, 183 (1968).

70. OUCHTERLONY, Ö.: Diffusion-in-gel-methods for-immunological analysis II. Progr. Allergy 6, 30 (1962).

71. OWEN, R.I., JONES, A.L.: Epithelial cell specialization within human Peyer's patches: an ultra-structural study of intestinal lymphoid follicles. GASTRO-ENTEROLOGY, 66, 189-203 1974.

72. PETZOLD, K., VON-BENTEN, C.: Passive allergisation of calves and lambs due to colostral antibodies. ANN. RECH. VET. 9, 235-8 (1978).

73. PLATTS-MILLS, T.A., DENMAN, A.M.: Hypersensitivity to food and immune reactions. J. HUM. NUTR., 30, 141-56 (1976).

74. PLUSCHTSCH, WASYL.: Abriss der Geschichte der ukrainischen medizinischen Wissenschaft und Ausbildung. CICERO VERLAG, MÜNCHEN (1970).

75. RICHARDSON, J., BOUCHARD, T., FERGUSON, C.C.: Uptake and transport of exogen-ous proteins by respiratory epi-thelium. LAB. INVEST., 35, 307-14 (1976).

76. RICHTER, W.: Built-in hapten inhibition of ana-phylaxis by the low molecular weight subfractions of a B-512 dextran fraction of MW3400. INT. ARCH. ALLERGY, 45, 930 (1973).

77. ROCHA E SILVA, M.: Function of anaphylotoxins. BRIT. MED. J., 1, 779 (1952).

78. ROSENTHAL, A.S., BARCINSKI, M.A., ROSENWASSER, L.J.: Function of macrophages in genetic control of immune responsiveness. FED. PROC., 37, 79 (1978).

79. RUDOLPH, A.M., HEYMANN, M.A.: The circulation of the fetus in utero. CIRC. RES., 21, 163 (1967).

80. SABIN, A.: Immunisation of chimpanzees and human beings with avirulent strains of poliomyelitis virus. ANN. N.Y. ACAD. SCI., 61, 1050 (1955).

81. SCHECHTER, B., SCHECHTER, I., SELA, M.: Antigenic determinants. J. BIOL. CHEM., 245, 1438 (1970).

82. SEIFERT, J., RING, J., BRENDEL, W.: The absorption of ALG from the gut and its lymphcytopenic effect in dogs. EUROP. SURG. RES., 6, 44 (1974).

83. SEIFERT, J.: Enterale Resorption groß-molekularer Proteine bei Tieren und Menschen. Z. ERNÄHRUNGSWISS., (SUPPL.), 18, 1-72 (1976).

84. SEIFERT, J.: Intestinal absorption of macromolecular proteins in adult animals and humans. Z. GASTROENTEROL., 12, 100 (1976).

85. SEIFERT, J., RING, J., STEININGER, J. BRENDEL, W.: Influence of the immune response on the absorption of protein antigens from the gut. NUTR. MET., 20, 195 (1976).

86. SEIFERT, J., RING, J., STEININGER, J., BRENDEL, W.: Oral antigen application. EUROP. SURG. RES., 8, 254 (1976).

87. STEINMAN, L. ET AL.: Sequential interaction of macrophages. EUROP. J. IMMUNOL., 8, 29-34 (1978).

88. STOKES, C.R., SWARBRICK, E.T.: Induction of tolerance after oral feeding of soluble protein antigen. BIOCHEM. SOC. TRANS., 5, 1573 (1977).

89. SWARBRICK, E.T., STOKES, C.R., SOOTHILL, J.F.: Absorption of antigens after oral immunization and the simultaneous induction of specific systemic tolerance., Gut, 20, 121 (1979).

90. TAGESSON, C., SJÖDAHL, R., THOREN, B.: Passage of molecules through the wall of the GI tract, I. a simple experimental model. SCAND. J. GASTROENTEROL. 13, 519 (1978).

91. THOMAS,H.C., McSWEEN, R.N., WHITE, R.G.: Role of the liver in controlling the immunogenicity of commensal bacteria in the gut. LANCET I, 1288 (1973).

92. THOMAS, H.C., PARROTT, D.M.V.: The induction of tolerance to a soluble protein antigen by oral administration. IMMUNOLOGY 27, 631 (1974).

93. TRIGER, D.R., ALP, M.H., WRIGHT, R.: Bacterial and dietary antibodoes in liver disease. LANCET II, 60 (1972).

94. TRIGER, D.R., ET AL.: Liver immunology. IMMUNOLOGY 25, 941 (1973).

95. TRIGER, D.R.: The liver as an immunological organ. GASTROENTEROL., 71, 162 (1976).

96. WALKER, W.A., ISSELBACHER, K.J., BLOCH, K.J.: Intestinal uptake of macromolecules: Effect of oral immunisation. SCIENCE, 177, 608 (1972).

97. WALKER, W.A., ISSELBACHER, K.J., BLOCH, K.J.: Intestinal uptake of macromolecules:II. Effects of perenteral immunisation. J. OF IMMUNOL. 111, 221 (1973).

98. WALKER, W.A., ET AL.: Intestinal uptake of macromolecules: III. Studies of the mechanism by which immunisation interferes with antigen uptake. J. OF IMMUNOL. 115, 854 (1975).

99. WALKER, W.A., WU, M., ISSELBACHER, K.J., BLOCH, K.J.: Intestinal uptake of macromolecules: IV. The effect of pancreatic duct ligation on the breakdown of antigen and antigen-antibody complexes on the intestinal surface. GASTROENTEROLOGY. 69, 1223 (1975).

100. WALKER, W.A., ABEL, S.N., WU, M., BLOCH, K.J.: Intestinal uptake of macromolecules: V. Comparison of the in vitro uptake by rat small intestine of antigen-antibody complexes prepared in antibody or antigen excess. J. OF IMMUN. 117, 1028 (1976).

101. WALKER, W.A.: Antigen handling by the gut. ARCH. DIS. CHILD., 53, 527 (1978).

102. WARSHAW, A., BELLINI, R WALKER, W.A.: The intestinal mucosal barrier to intact antigenic protein: The differance between colon and small intestine. AMER. J. SURG., 133, 55 (1977).

103. WILLOUGHBY, J.B., WILLOUGHBY, W.F.: In vivo responce to inhaled proteins. I. Quantitative analysis of antigen uptake fate, and immunogenicity in a rabbit model. J. IMMUNOL., 119, 2137 (1977).

104. WATSON, D.W.: Immune response and the gut. GASTROENTEROLOGY 56, 944 (1969).

105. WÜTRICH, B., STORCK, H.: Desensibilisierungsresultate bei Pollenallergikern mit Allpyral un mit wässrigen Extrakten. SCHWEIZ. MED. WSCHR. 98, 653 (1968).

LEBENSLAUF

09.05.1949	Geboren in Weinheim a.d. Bergstraße
1951	Auswanderung nach den U.S.A.
1956-1963	Besuch der Volksschule, „St. Louis the King" in Detroit, Michigan
1963-1967	Besuch des Jesuiten Gymnasiums „University of Detroit High School"
1967-1968	Besuch des „Schiller College" bei Ludwigsburg
1968-1972	Studium der Biologie an der „Wayne State University" in Detroit, Michigan
1974	Beginn des Medizinstudiums an der Ludwig Maximilians Universität, München
1981	Bestallung als Arzt
Eltern:	Stefan Figacz Sofia Figacz, geb. Tyliszczak
Ehefrau:	Romana Figacz, geb. Sawchuk (Seit 21. 9. 1974)
Kinder:	Krista-Maria, geb. 29.04.1977 Alexis-Olena, geb. 04.10.1979